

# Gastrointestinal transit time, gut microbiota and metabolic health

Citation for published version (APA):

Müller, M. (2019). *Gastrointestinal transit time, gut microbiota and metabolic health: modulation by dietary fibers*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Maastricht University.  
<https://doi.org/10.26481/dis.20191024mm>

## Document status and date:

Published: 01/01/2019

## DOI:

[10.26481/dis.20191024mm](https://doi.org/10.26481/dis.20191024mm)

## Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

## Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

## General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

[www.umlib.nl/taverne-license](http://www.umlib.nl/taverne-license)

## Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[repository@maastrichtuniversity.nl](mailto:repository@maastrichtuniversity.nl)

providing details and we will investigate your claim.

## Summary

Alterations of the gut microbiota and microbial metabolites may play an important role in the etiology of metabolic diseases such as obesity and type 2 diabetes mellitus. Key microbial metabolites are the short-chain-fatty acids (SCFA) acetate, butyrate, and propionate derived from microbial fermentation of dietary fibers. SCFA are suggested to be involved in body weight regulation and insulin sensitivity as shown in rodent studies and short-term human interventions. The passage of food through the intestine, i.e., the GI transit time plays a crucial role in postprandial nutrient metabolism and may affect gut microbiota composition. Thus, modulation of the GI transit time may impact glucose homeostasis and metabolic health. Recently, *in vitro* and population-wide studies suggested a bidirectional relationship between the gastrointestinal (GI) transit time and the gut microbiota composition. Using different methodological approaches, this thesis aims to provide insights into the interaction between dietary fibers, the gut microbiota and SCFA production in relation to GI transit time and metabolic health in humans.

First, **Chapter 2** provides an overview of the potential underlying mechanisms of the interaction between GI transit, glucose homeostasis, and metabolic health, and how dietary fibers may exert beneficial metabolic effects via modulation of GI functioning. Short- and long-term human interventions with soluble, insoluble, fermentable or viscous dietary fiber are discussed with respect to their effect on GI transit, microbiota modulation, and glucose homeostasis. Different types of dietary fibers i.e., soluble, insoluble, fermentable or viscous fibers influence GI transit time in a site-specific manner. Insoluble fibers accelerate colonic transit due to increased fecal stool bulking and have been associated with reduced T2DM risk in epidemiological studies. Viscous fibers can delay postprandial glycemia mediated by changes in gastric emptying, yet the role of gut peptide secretion in this process is not fully understood. From this literature review, it becomes evident that there is a lack of high-quality and well-controlled human intervention studies investigating the effect of prebiotic fibers on GI transit in the context of metabolic health.

Next, we studied the prebiotic wheat-bran derived dietary fiber arabinoxylan-oligosaccharides (AXOS), which induced beneficial effects on colonic fermentation, stool parameters as well as glycemia as shown in short-term human studies. In a randomized, placebo-controlled 12-week intervention study, we investigated the effect of 15 g/day AXOS intake on whole gut transit time (measured via radio-opaque markers) and

## | Summary

metabolic health in normoglycemic participants with slow GI transit (**Chapter 3**). Secondary outcomes were changes in gut microbiota composition, gastric emptying, oro-cecal transit, gut permeability, fecal and plasma SCFA, energy and substrate metabolism, local inflammatory markers and glycemic and insulinemic responses. The 12-week of AXOS intervention strongly increased fecal *Bifidobacterium* abundance, reduced microbiota diversity and softened stool consistency without changes in GI transit, SCFA fermentation and metabolic health parameters. Contrary to probiotic studies, prebiotic stimulation of *Bifidobacterium* was not effective in improving GI transit or markers of metabolic health in this study population. However, the overall gut microbiota composition accurately classified responders with faster GI transit indicating that changes in GI transit were associated with gut microbiota composition independent of *Bifidobacterium* increases.

To further elucidate this interaction between GI transit and gut microbiota composition, we investigated to what extent quantitative measures of (segmental) colonic transit time were related to gut microbiota composition, microbial metabolites and gut-related parameters, dietary intake and host demographics in a human cross-sectional study (**Chapter 4**). Linear regression models and redundancy based-analysis demonstrated that distal colonic transit time was related to microbial alpha-diversity, fecal SCFA and plasma acetate concentrations, while microbiota composition was related to age, sex, and dietary intake and only to a minor extent to stool consistency. The study's findings suggest that the distal colonic transit may affect not only microbiota diversity but also microbial SCFA production. Thus, when targeting the microbial fermentation to improve the host health, the colonic site of fermentation should be considered in future interventional studies.

Contrary to the accumulating evidence of the beneficial effects of SCFA on energy metabolism, human cross-sectional studies have also shown increased fecal SCFA concentrations in overweight and obese compared to lean participants. Yet, it is well known that fecal SCFA reflect only approximately 5% of the microbially produced SCFA and are the net result of production and absorption. In **Chapter 5**, we studied the association between fecal and fasting circulating SCFA with fasting glucose, insulin, circulating lipids (free fatty acids, triacylglycerols, glycerol), insulin resistance index (homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR)), gut hormone concentrations in 160 healthy to prediabetic participants. In a subgroup of prediabetic participants, peripheral insulin sensitivity was measured by the hyperinsulinemic-euglycemic clamp technique. Using adjusted multiple linear regression models, we showed that fasting circulating acetate, propionate and butyrate concentrations were positively associated with fasting glucagon-

like peptide (GLP) 1 concentrations. Further, circulating SCFA were negatively related to whole-body lipolysis (glycerol), triglycerides and free fatty acids concentrations. In the subgroup analysis of the prediabetic participants, circulating acetate was negatively and propionate positively associated with peripheral insulin sensitivity. Contrary to previous studies on acetate, we observed higher circulating acetate concentrations in prediabetic participants, which may reflect an altered endogenous acetate metabolism in these metabolically compromised individuals. Strikingly, none of the fecal SCFA were associated with any measured metabolic parameter. We concluded from these data that circulating SCFA are more directly linked to metabolic health indicating, which indicates the need to measure circulating SCFA in human prebiotic/probiotic intervention studies as a biomarker/mediator of effects on host metabolism.

As shown in this thesis, the site of colonic fermentation may be of importance when studying the effect of dietary fiber fermentation on metabolic health. We previously demonstrated that acetate infusions in the distal, but not proximal, colon improved fat oxidation and metabolic health in men. In a proof-of-concept study (**Chapter 6**), we hypothesized that combining acetogenic fibers, especially if ‘slowly fermentable’, with a more ‘rapidly fermentable’ fiber will enhance microbial acetate production in the distal colon, thereby improving human energy and substrate metabolism. We first identified an optimal fiber mixture that yielded high distal colonic acetate in an *in vitro* model of the human colon (TIM-2). Long-chain inulin (INU) was selected as slow fermentable fiber combined with a more rapidly fermentable resistant starch (RS), which together yielded a high distal colonic acetate production in the TIM-2 model. Subsequently, in a randomized crossover study, lean and prediabetic men with overweight/obesity received equicaloric supplements (3 times a day) of either 12g long-chain inulin + 7.5g resistant starch (INU+RS), 12g long-chain inulin alone plus 5.4g maltodextrin (INU) or 11.4g maltodextrin only (placebo, PLA), a day prior to a clinical investigation day. One-day supplementation of RS combined with INU versus INU and PLA promoted microbial fermentation, increased fasting and postprandial energy expenditure and carbohydrate oxidation and increased postprandial insulin sensitivity in lean individuals the following day. Contrary to our hypothesis, circulating acetate was not increased after INU and RS supplementation in lean men.

In overweight/obese prediabetic men, INU+RS versus INU and PLA increased circulating acetate concentrations but did not result in improvements in the energy and substrate metabolism which substantiates again the notion that acetate metabolism may be altered in the metabolically disturbed phenotype. Further research has to elucidate

## **| Summary**

whether in the prediabetic phenotype a longer-term supplementation period is required to demonstrate beneficial effects on metabolic health.

To conclude, the main findings of this thesis provide further evidence for the connection between the (distal) GI transit, gut microbiota composition and microbial fermentation in humans. Further, this thesis highlights the importance of measuring circulating SCFA in the context of metabolic health outcomes and provides evidence of altered SCFA metabolism in the metabolically disturbed phenotype. Personalized approaches are warranted to more efficiently target the gut microbiota composition and metabolism with nutritional interventions to improve gastrointestinal and metabolic health.

## Samenvatting

Veranderingen in de darmmicrobiota en microbiële metabolieten kunnen een rol spelen in de etiologie van stofwisselingsziekten zoals obesitas en type 2 diabetes. De belangrijkste microbiële metabolieten zijn de korte-keten vetzuren (SCFA) acetaat, butyraat en propionaat afkomstig van microbiële fermentatie van voedingsvezels. Proefdierstudies en korte termijn humane interventie studies tonen aan dat SCFA betrokken zijn bij de regulering van het lichaamsgewicht en insulinegevoeligheid. De passage van voedsel door de darm, d.w.z. de transittijd speelt een cruciale rol in het postprandiale nutriëntenmetabolisme en kan de ook de samenstelling van de darmmicrobiota beïnvloeden. Zo kan modulatie van de GI transittijd van invloed zijn op de glucosehomeostase en de metabole gezondheid. Het blijkt uit recente *in vitro* en populatie brede studies dat er een bidirectioneel verband is tussen de gastro-intestinale (GI) transittijd en de samenstelling van de darmmicrobiota. Met behulp van verschillende methodologische benaderingen wil dit proefschrift inzicht geven in de interactie tussen voedingsvezels, de darmmicrobiota en SCFA-productie in relatie tot de GI-transittijd en de metabole gezondheid.

**Hoofdstuk 2** geeft een overzicht van de potentiële onderliggende mechanismen van de interactie tussen GI-transittijd, glucose homeostase en metabole gezondheid, en hoe voedingsvezels gunstige metabole effecten kunnen hebben via de modulatie van GI functies. Korte en lange termijn humane interventie studies met oplosbare, onoplosbare, fermenteerbare, prebiotische of viskeuze voedingsvezels worden besproken met betrekking tot hun effect op de GI-transittijd, microbiota modulatie en glucose homeostase. Verschillende soorten voedingsvezels, d.w.z. oplosbare, onoplosbare, fermenteerbare of viskeuze vezels, beïnvloeden de GI transittijd op een locatie-specifieke manier. Onoplosbare vezels versnellen de transittijd door de colon als gevolg van een verhoogde ontlasting van de ontlasting en zijn in epidemiologisch onderzoek in verband gebracht met een verminderd T2DM-risico. Viskeuze vezels kunnen de postprandiale bloedsuikerspiegel, gemedieerd door veranderingen in de maaglediging, verbeteren, maar de rol van de secretie van specifiek darm hormonen in dit proces wordt niet volledig begrepen. Verder blijkt uit dit literatuuroverzicht blijkt dat er een gebrek is aan kwalitatief hoogstaande en goed gecontroleerde humane interventiestudies die het effect van prebiotische vezels op de GI-transit in de context van metabole gezondheid onderzoeken.

Vervolgens bestudeerden we de prebiotische van tarwezemeel afgeleide voedingsvezel arabinoxylan-oligosacchariden (AXOS), die gunstige effecten kan hebben op

## |Samenvatting

de fermentatie en ontlasting in de colon en op de controle van de bloedglucosespiegel zoals aangetoond in korte-termijn humane studies. In een gerandomiseerde, placebo-gecontroleerde 12 weken durende interventiestudie onderzochten we het effect van 15 g/dag AXOS inname op de transittijd van de gehele darm (gemeten via radio-opake markers) en de metabole gezondheid bij normoglycemische deelnemers met een trage GI transit (hoofdstuk 3). Secundaire uitkomsten waren veranderingen in de samenstelling van de darmmicrobiota, maaglediging, oro-cecale passagetijd, darmdoorlaatbaarheid, fecale en plasma SCFA, energie- en substraatmetabolisme, lokale inflammatoire markers en glykemische en insulinemische responses. De 12 weken durende AXOS-interventie verhoogde de aanwezigheid van fecale Bifidobacteriën, verminderde de microbiota diversiteit en resulteerde in een zachtere ontlasting zonder veranderingen in de GI-transittijd, SCFA-fermentatie en metabole gezondheidsparameters. In tegenstelling tot probiotische studies was de prebiotische stimulatie van *Bifidobacterium* niet effectief om in deze studiepopulatie de GI-transittijd of markers van metabole gezondheid te verbeteren. Echter, de samenstelling van de darmmicrobiota kon deelnemers met snellere GI transittijd na AXOS inname nauwkeurig classificeren, wat aangeeft dat veranderingen in de GI-transittijd geassocieerd zijn met de samenstelling van de darmmicrobiota onafhankelijk van aanwezigheid van *Bifidobacterium*.

Om deze interactie tussen de GI transittijd en de samenstelling van de microbiota verder te onderzoeken, hebben we de associaties van kwantitatieve maten van de (segmentale) transittijd door het colon en de diversiteit en samenstelling van de darmmicrobiota van deze deelnemers bepaald door middel van een cross-sectionele studie (**Hoofdstuk 4**). Lineaire regressiemodellen toonden aan dat de transit door het distale colon gerelateerd was aan de microbiële alfa-diversiteit, fecale SCFA en plasma-acetaatconcentratie. Daarentegen was de samenstelling van de microbiota gerelateerd aan leeftijd, geslacht, en de voedingsinname en slechts in geringe mate aan de consistentie van de ontlasting. Dit suggereert dat de distale colon transit niet alleen van invloed kan zijn op de diversiteit van de microbiota, maar ook op de microbiële stofwisseling. Dit suggereert dat voor het verbeteren van de metabole en damgezondheid rekening moet worden gehouden met de plaats in het colon waar de microbiële fermentatie plaatsvindt.

In tegenstelling tot het toenemende bewijs van de gunstige effecten van SCFA op het energiemetabolisme, hebben cross-sectionele studies aangetoond dat fecale SCFA-concentraties bij overgewicht en obesitas hoger zijn in vergelijking met slanke deelnemers. Niettemin, fecale SCFA weerspiegelen slechts 5% van de microbiëel geproduceerde SCFA en zijn het nettoresultaat van productie en absorptie. In **Hoofdstuk 5** bestudeerden we

het verband tussen fecale en circulerende SCFA met gevaste concentraties van glucose, insuline, circulerende lipiden (vrije vetzuren, triacylglycerol, glycerol), insulineresistentie-index (homeostasemodel bepaling van de insulineresistentie (HOMA-IR)) en darmhormoonconcentraties in 160 gezonde tot prediabetische deelnemers. In een subgroep van prediabetische deelnemers met overgewicht/obesitas werd de perifere insuline gevoeligheid gemeten met behulp van de hyperinsulinemische-euglycemische clamp techniek. Met behulp van multivariate lineaire regressiemodellen toonden we aan dat circulerende acetaat-, propionaat- en butyraatconcentraties positief geassocieerd waren met glucagon-like peptide (GLP) 1 concentraties. Verder waren circulerende SCFA negatief gerelateerd met de lipolyse (glycerol), triglyceriden en vrije vetzuurconcentraties. In de subgroep analyse van de prediabetische deelnemers was circulerend acetaat negatief en propionaat positief geassocieerd met perifere insuline gevoeligheid. In tegenstelling tot eerdere studies over acetaat, zagen we hogere circulerende acetaatconcentraties bij prediabetische deelnemers, die een veranderde endogene acetaatstofwisseling bij deze metabool verstoorde personen kunnen weerspiegelen. Opvallend genoeg werd geen van de fecale SCFA geassocieerd met metabole parameters. We concluderen uit deze resultaten dat de circulerende SCFA direct gerelateerd zijn aan parameters van de metabole gezondheid, wat aangeeft dat we in interventiestudies, die de effecten van pro- of prebiotica bekijken, circulerende SCFA moeten meten als een reflectie van de effecten op de stofwisseling.

Zoals aangetoond in dit proefschrift is de plaats waar vezels gefermenteerd worden van belang bij het bestuderen van het effect van voedingsvezelfermentatie op de metabole gezondheid. In vorige studies hebben we aangetoond dat met name distale toediening van acetaat in het colon uitgesproken effecten heeft op de metabole gezondheid, terwijl proximale toediening in het colon geen effecten had op de stofwisseling. In een proof-of-concept studie (**hoofdstuk 6**), was onze hypothese dat het combineren van acetogene vezels, vooral de combinatie van 'langzaam fermenteerbare' met 'sneller fermenteerbare' vezels de microbiële acetaatproductie in het distale colon zal verhogen, wat meer uitgesproken effecten op de metabole gezondheid zal hebben.

We hebben eerst in een *in vitro* model van het humane colon (TIM-2) het optimale vezelmengsel geïdentificeerd wat leidt tot de hoogste acetaat productie in het distale deel van de colon. Lange keten inuline (INU) werd geselecteerd als langzaam fermenteerbare vezel in combinatie met een snel fermenteerbaar, resistent zetmeel (RS). Vervolgens hebben we een gerandomiseerde, placebo-gecontroleerde studie uitgevoerd met acute supplementatie van het vezelmengsel bij normoglycemische mannen met



## |Samenvatting

normaalgewicht en bij mannen met prediabetes en overgewicht/obesitas. Het was een eendaagse interventie met inname (3 keer per dag) van ofwel 12g lange-keten inuline + 7.5g resistent zetmeel (INU+RS), 12g lange-keten inuline + 5.4g maltodextrine (INU) of 11.4g maltodextrine alleen (placebo, PLA) een dag voorafgaand aan een klinische onderzoeksdag. Eendaagse suppletie van RS in combinatie met INU versus INU en PLA bevorderde de microbiële fermentatie, verhoogde nuchter en postprandiaal energieverbruik en koolhydraatoxidatie en verhoogde postprandiale insuline gevoeligheid bij slanke mannen de volgende dag. In tegenstelling tot onze hypothese, werd het circulerende acetaat na INU en RS supplementatie bij slanke mannen niet verhoogd

Bij mannen met prediabetes en overgewicht/obesitas verhoogde de inname van INU+RS versus INU en PLA de circulerende acetaatconcentraties, maar dit resulteerde niet in verbeteringen in het energie- en substraatmetabolisme. Deze bevindingen bevestigen het idee dat het acetaatmetabolisme verstoord kan zijn bij mensen met een hoog risico om diabetes te ontwikkelen. Samen suggereren deze resultaten dat dit vezelmengsel een strategie zou kunnen zijn om gewichtstoename en insulineresistentie te voorkomen, maar verdere lange termijn suppletiestudies zijn gerechtvaardigd.

De belangrijkste bevindingen van dit proefschrift leveren bewijs voor het verband tussen de passagesnelheid in de (distale) dikke darm, de samenstelling van de darmmicrobiota en de microbiële fermentatie bij de mens. Verder benadrukt dit proefschrift het belang van het meten van circulerende SCFA in de context van metabole gezondheid en levert het bewijs dat een verstoorde metabole gezondheid gepaard kan gaan met een veranderd acetaatmetabolisme. Gepersonaliseerde interventies zijn noodzakelijk voor een meer doelgerichte verandering van de microbiële samenstelling en functionaliteit om op deze manier een optimale gezondheidswinst te bewerkstelligen

## Zusammenfassung

Veränderungen der Darmmikrobiota und deren Stoffwechselprodukte spielen möglicherweise eine wichtige Rolle in der Ätiologie von Stoffwechselerkrankungen wie Adipositas und Diabetes Mellitus. Wichtige mikrobielle Metabolite Stoffwechselmetabolite sind in diesem Zusammenhang die kurzkettigen Fettsäuren (SCFA) Acetat, Butyrat und Propionat, welche bei der Fermentation von Ballaststoffen im Darm produziert werden. Sowohl Tierstudien als auch akute Humane Interventionsstudien, die sich auf den akuten Effekt von SCFA fokussieren, zeigen, dass SCFA eine wichtige Rolle in Stoffwechselprozessen innerhalb der Regulierung des Körpergewichts und der Insulinsensitivität beteiligt sind. spielen. Der Transit von Nahrung durch den Darm, d.h. die gastrointestinale (GI) Transitzeit spielt eine entscheidende Rolle im postprandialen Nährstoffstoffwechsel und kann die Zusammensetzung der Darmmikrobiota beeinflussen. Auf diese Weise könnten Veränderungen der GI-Transitzeit die Glukosehomöostase und die metabolische Gesundheit beeinflussen. Aktuelle *in vitro* und bevölkerungsweiten Studien geben Hinweise auf einen bidirektionalen Zusammenhang zwischen der GI Transitzeit und der Zusammensetzung der Darmmikrobiota. Diese Interaktion zwischen der Einnahme von Ballaststoffen, der Darmmikrobiota und SCFA-Produktion in Bezug auf die GI-Transitzeit und den Stoffwechsel wurde in der vorliegenden Doktorarbeit mittels verschiedener Methodiken untersucht.

Im **Kapitel 2** der vorliegenden Doktorarbeit werden die potenziellen Mechanismen beschrieben, welche der Interaktion zwischen GI-Transit, Glukosehomöostase und Glukosehomöostase und weiteren wichtigen Stoffwechselfaktorenmetabolischer Gesundheit zugrunde liegen und erläutert weiterhin, wie Ballaststoffe durch die Modulierung von GI-Funktionen den Stoffwechsel positiv beeinflussen. Akut- und Langzeitstudien mit löslichen, unlöslichen, fermentierbaren, präbiotischen oder viskosen Ballaststoffen wurden hinsichtlich ihrer Auswirkungen auf den GI-Transit, die Zusammensetzung der Darmmikrobiota und die Glukosehomöostase diskutiert. Verschiedene Arten von Ballaststoffen, d.h. lösliche, unlösliche, fermentierbare oder viskose Ballaststoffe beeinflussen die GI-Transitzeit ortspezifisch. Unlösliche Ballaststoffe beschleunigen den Transit durch das Kolon aufgrund von erhöhtem Stuhlvolumen und wurden gleichzeitig in epidemiologischen Studien mit einem reduzierten T2DM-Risiko in Verbindung gebracht. Viskose Ballaststoffe können die postprandiale Glykämie verzögern indem sie Entleerung des Mageninhaltes in den Dünndarm verlangsamen. Weiterhing geht aus dieser Literaturrecherche hervor, dass es

## |Zusammenfassung

ein Mangel gibt an qualitativ hochwertigen und gut kontrollierten Studien gibt, die die Wirkung von unlöslichen und als auch präbiotischen Ballaststoffen sowohl auf den GI-Transit als auch auf den Stoffwechsel untersuchen.

In **Kapitel 3** wurden die Effekte von einer 12-wöchigen Intervention mit dem von Weizenkleie abstammender Ballaststoff namens Arabinoxylan-Oligosaccharid (AXOS) untersucht. Akute Humanstudien haben gezeigt, dass die Einnahme von AXOS positive Auswirkungen auf die Fermentation im Darm, die Stuhlkonsistenz und als auch die postprandiale Glukoseregulierung haben kann. In einer randomisierten, Placebo-kontrollierten 12-wöchigen Interventionsstudie wurde die Wirkung von 15 g/Tag AXOS auf GI-Transit (gemessen am Transit durch den gesamten Gastrointestinaltrakt) und verschiedene Stoffwechselfaktoren die metabolische Gesundheit bei normoglykämischen Teilnehmern mit langsamen GI-Transit untersucht. Sowohl die Darmbarrierefunktion, die Zusammensetzung der Darmmikrobiota und Fermentation als auch das Stoffwechselprofil der Teilnehmer wurde charakterisiert. Die 12-wöchige AXOS-Intervention erhöhte das Vorkommen von Bifidobakterien im Stuhl, reduzierte die mikrobielle Diversität und führte zu einer weicheren Stuhlkonsistenz, jedoch ohne den GI-Transit, die SCFA Produktion oder das Stoffwechselprofil zu beeinflussen. Im Gegensatz zu probiotischen Studien war der AXOS induzierte Anstieg von Bifidobakterien nicht ausreichend um den GI-Transit zu verbessern, d.h. zu beschleunigen. Jedoch konnten wir auf Basis der generellen Zusammensetzung der Darmmikrobiota vorhersagen, welche Teilnehmer nach der AXOS Einnahme einen beschleunigten, also verbesserten, GI-transit hatten. Dies deutet daraufhin, dass, unabhängig von der Zunahme von Bifidobakterien, Änderungen im GI-Transit mit der Zusammensetzung der Darmmikrobiota assoziiert sind. Um diese Interaktion weiter zu untersuchen, analysierten wir mögliche Zusammenhänge zwischen GI-Transitparametern, hierbei mit besonderem Fokus auf die Transitzeit durch die unterschiedlichen Segmente im Kolon, der mikrobiellen Diversität und Zusammensetzung unter Berücksichtigung von Ernährungsprofil, Alter, und Geschlecht der Studienteilnehmer in **Kapitel 4**. Lineare Regressionsmodelle und redundanzbasierte Analysen zeigten, dass vor allem eine hohe Transitzeit durch das distale Kolon mit höherer mikrobieller Diversität, fäkalen SCFA und niedrigeren zirkulierende Acetatkonzentrationen zusammenhing. Die mikrobielle Zusammensetzung hingegen hing am stärksten mit dem Alter, Geschlecht und Ernährungsprofil der Teilnehmer und in geringem Maße mit der Stuhlkonsistenz zusammen. Dies deutet darauf hin, dass der Transit durch das distale Kolon nicht nur die Diversität der Mikrobiota, sondern auch den mikrobiellen SCFA-Stoffwechsel beeinflussen kann. Dies sollte bei zukünftigen interventionellen Studien

berücksichtigt werden, welche darauf abzielen, durch erhöhte mikrobielle Fermentation und Diversität die Gesundheit des Darmes und des Stoffwechsels positiv zu beeinflussen.

Im Gegensatz zu den sich häufenden Beweisen über den positiven Effekt von SCFA auf den Energiestoffwechsel, zeigen manche humane Querschnittsstudien wiederum erhöhte SCFA-Konzentrationen im Stuhl von Teilnehmern mit Übergewicht und Adipositas im Vergleich zu normalgewichtigen Teilnehmern. Diese Studien werden jedoch durch die Tatsache beeinflusst, dass fäkale SCFA nur circa 5% der mikrobiell produzierten SCFA im Kolon reflektieren und das Nettoergebnis von Produktion und Absorption sind. In **Kapitel 5** haben wir den Zusammenhang zwischen fäkalen und zirkulierenden SCFA und Glukose, Insulin, verschiedener Lipide (freie Fettsäuren, Triacylglycerol, Glycerol) als auch dem Inulinresistenz-Index (Homeostasis Modell Assessment Test) und darmspezifischer Hormone bei 160 Teilnehmern mit Normalgewicht, als auch Übergewicht und Adipositas mit Prädiabetes untersucht. In einer Subgruppe von Teilnehmern mit Prädiabetes wurde außerdem die periphere Insulinsensitivität mit der Hyperinsulinämischer-euglykämischer Glukose-Clamp-Test gemessen. Mittels multivariaten, linearen Regressionsmodellen zeigten wir, dass die Konzentrationen von zirkulierendem Acetat, Propionat und Butyrat positiv mit den Konzentrationen von Glucagon-like Peptiden (GLP-1) assoziiert waren. Weiterhin assoziierten zirkulierende SCFA negativ mit Markern von Lipolyse (Glycerin), Triglyceriden und freien Fettsäurekonzentrationen. In der Subgruppenanalyse der prädiabetischen Teilnehmer waren zirkulierendes Acetat negativ und Propionat positiv mit der peripheren Insulinsensitivität assoziiert. Im Gegensatz zu früheren Studien beobachteten wir höhere zirkulierende Acetatkonzentrationen bei Teilnehmern mit Prädiabetes, welches möglicherweise auf einen gestörten endogenen Acetatstoffwechsel bei diesen Teilnehmern hindeuten könnte. Auffallend war, dass keiner der fäkalen SCFA mit den gemessenen Stoffwechselparametern assoziiert war. Aus diesen Daten schlossen wir, dass im Kontext eines funktionierenden Stoffwechsels die im systemischen Blutkreislauf gemessene SCFA aussagekräftiger sind als fäkale SCFA Konzentrationen. Dies sollte in zukünftigen Interventionsstudien mit Ballaststoffen berücksichtigt werden.

Wie in dieser Arbeit gezeigt wurde, hatte der anatomische Ort der Fermentation im Kolon einen Einfluss auf die Fermentation von Ballaststoffen. Wir haben in früheren Studien bereits gezeigt, dass Acetatinfusionen in das distale, aber nicht ins proximale Kolon die Fettverbrennung und die metabolische Gesundheit bei Männern mit Übergewicht/Adipositas verbessern kann. In einer Proof-of-Concept-Studie (**Kapitel 6**) stellten wir die Hypothese auf, dass die Kombination von einem acetogenen Ballaststoff, insbesondere wenn sie "langsam fermentierbar" sind, mit einem "schnell

## **|Zusammenfassung**

fermentierbaren" Ballaststoff die mikrobielle Acetatproduktion im distalen Kolon erhöhen könnte, wodurch sich auch der Energie- und Substratstoffwechsel verbessern könnte. Wir identifizierten zunächst eine optimale Ballaststoffmischung, die in einem *in-vitro*-Modell des menschlichen Dickdarms (TIM-2) zu erhöhter Acetatproduktion im distalen Kolon führte. Hierbei ergab sich, dass langkettiges Inulin (INU) als langsam fermentierbare Ballaststoff in Kombination mit der schnell fermentierbaren resistenten Stärke (RS) im TIM-2-Modell zu einer hohen distalen Acetatproduktion führte. Anschließend führten wir eine randomisierte, Placebo-kontrollierte Studie mit akuter Ballaststoffmix-Supplementierung bei normoglykämischen Männern mit Normalgewicht und bei Männern mit Prädiabetes und Übergewicht/Adipositas durch. Die Intervention bestand aus einer dreimal täglichen Einnahme von 12 g langkettigem Inulin + 7,5 g resistenter Stärke (INU+RS), oder 12 g langkettigem Inulin + 5,4 g Maltodextrin (INU) oder nur 11,4 g Maltodextrin (Placebo, PLA). Die eintägige Supplementierung von RS in Kombination mit INU versus INU und PLA alleine förderte die mikrobielle Fermentation, erhöhte den nüchternen und postprandiale Energieverbrauch und Kohlenhydratoxidation und erhöhte postprandiale Insulinempfindlichkeit bei normalgewichtigen Männern bei der Messung am Morgen nach der Einnahme. Entgegen unserer Hypothese wurde zirkulierendes Acetat nach INU- und RS-Supplementierung bei mageren Männern nicht erhöht. Im Gegensatz dazu erhöhte die Einnahme von INU+RS versus INU und PLA die Acetatkonzentrationen von Teilnehmern mit Übergewicht und Prädiabetes, führten aber nicht zu einer Verbesserung der untersuchten Stoffwechselparameter. Dies deutet daraufhin, dass der Acetatstoffwechsel im metabolisch kompromittierten Phänotyp verändert scheint. Zusammengefasst deuten diese Ergebnisse darauf hin, dass diese Ballaststoffkombination ein Ernährungsstrategie sein könnte, um den Glukosehaushalt zu verbessern, jedoch sind weitere langfristige Studien mit der Ballaststoffkombination notwendig um diese Ergebnisse zu untermauern.

Zusammenfassend liefern die Ergebnisse dieser Doktorarbeit weitere Beweise für den bidirektionalen Zusammenhang zwischen dem (distalen) GI-Transit, der Darmmikrobiota und der mikrobiellen Fermentation beim Menschen. Darüber hinaus unterstreicht diese Arbeit, dass, im Kontext von Stoffwechselkrankheiten, die Messung von zirkulierender SCFA im Plasma der Messung von fäkalen SCFA vorzuziehen ist. Es wird deutlich, dass in zukünftige Ernährungsinterventionen, welche über die Darmmikrobiota und mikrobielle Fermentation die Gesundheit des Magen-Darm-Traktes und des Stoffwechsels verbessern sollen, mit personalisierten Ansätzen möglicherweise erfolgreicher sein könnten.